

## Inventario fúngico asociado a las semillas de cultivares de cardo (*Cynara cardunculus* L.)

D. PALMERO, C. IGLESIAS, J. SINOBAS †

Se caracterizó la micoflora presente en las semillas de 54 cultivares de cardo cosechados entre las campañas 1992-93 y 1997-98, 10 muestras procedentes del Servicio de Investigación Agraria, finca 'La Orden' (Badajoz) y 44 muestras de la Unidad Docente de Botánica de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid. Se analizaron un total de 4400 semillas, identificándose 15 géneros fúngicos diferentes. La presencia de los diferentes géneros varió en función de las localidades y los años de cosecha, entre la microbiota fúngica aislada cabe destacar por su potencial patogenicidad especies de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus* y *Alternaria*.

D. PALMERO: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorios, Ctra de la Coruña Km 7,5 (28400) Madrid. email: palmero@inia.es

C. IGLESIAS, J. SINOBAS (Fallecido en Madrid el 26 de julio de 2004): U.D. Genética y Fitopatología. E.U.I.T.A. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria, 28400 Madrid.

**Palabras clave:** Semilla, cardo, *Cynara cardunculus*, microbiota fúngica.

## INTRODUCCIÓN

Entre las especies herbáceas productoras de biomasa ligno-celulósica con fines agroenergéticos cabe destacar el cardo (*Cynara cardunculus* L.) (Fig. 1), conocido también como cardo lleno, especie típica del área mediterránea, perfectamente adaptada a su climatología, y susceptible a ser utilizada como materia prima para un aprovechamiento puramente energético.

Al tratarse de un cultivo perenne (de 10 a 15 años) se reducen los costes de implantación, además, la posibilidad de obtener dos cosechas al año, implementa las razones económicas para su aplicación.

Teniendo en cuenta estos factores, el coste de producción de biomasa ligno-celulósica de cardo podría estar en torno a los 16,22 euros por tonelada, siendo el precio de la ter-

mia producida (1000 Kcal.) de  $4,03 \times 10^{-3}$  euros. Comparados con los demás combustibles, estos costes ofrecen una clara ventaja, haciendo viable su cultivo (HERNÁNDEZ, 1996).

En ensayos experimentales en cultivo de secano, se han obtenido producciones totales de biomasa de 20 a 30 toneladas de materia seca con 2.000 a 3.000 Kg de semillas ricas en aceite (25%) y proteínas (20%), susceptibles a ser empleadas en la producción de biocarburantes (FERNÁNDEZ, 1994).

Las plagas y enfermedades que afectan a la germinación de las semillas tienen un importante efecto sobre el rendimiento final del cultivo, tanto en el aspecto productivo como en la concentración de aceite y proteínas. La calidad de las semillas es, por tanto, uno de los principales aspectos a tener en cuenta en la mejora del cultivo.



Figura 1. Vista general de la parcela de cultivo de cardo.

Tradicionalmente se ha observado una considerable variación en la germinación de las semillas en función de su procedencia. En España no conocemos que se hayan realizado trabajos sobre las enfermedades que afectan al cultivo o a la semilla del cardo. Dado el potencial que en un futuro no muy lejano puede llegar a alcanzar el cultivo del mismo, esta investigación permitirá conocer los posibles problemas que aparezcan en los

semilleros y explotaciones del cultivo en nuestro país.

El objetivo del presente estudio es realizar un inventario fúngico asociado a las semillas de cardo de los cultivares disponibles en España. Además, se compararán los inventarios fúngicos de las semillas almacenadas en los bancos de las distintas regiones.

## MATERIALES Y METODOS

### Material estudiado

Se analizaron un total de 4400 semillas de cardo (Fig.2), correspondientes a las muestras enviadas desde Badajoz, procedentes del Servicio de Investigación Agraria, finca "La Orden" (Badajoz) y de Madrid, procedentes



Figura 2. Semillas de distintos cultivares de cardo.

Cuadro 1. Muestras de semillas analizadas y localidades de procedencia.

Código de muestras	Localidad	Año de cosecha
M-1 a M-10	Madrid	1992-1996
M-11 a M-28	Madrid	1997
M-29 a M-44	Madrid	1998
B-1 a B-6	Badajoz	1997
B-7 a B-10	Badajoz	1998

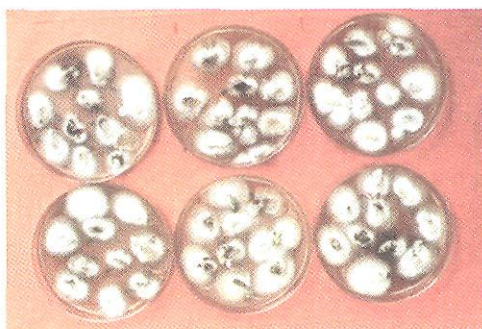


Figura 3. Flora fusárica de semillas de cardo en medio selectivo K.

del Departamento de Producción Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid. Constituyendo un total de 54 muestras (44 muestras de Madrid, 10 muestras de Badajoz).

Las localidades de procedencia de cada muestra, así como el año de cosecha de las mismas, queda reflejado en el cuadro 1.

### Técnicas de análisis y medios de cultivo

#### Análisis generales

Se realizaron análisis con semillas de todos los lotes, colocando 10 semillas de cada muestra en cajas de Petri con medio de agar de patata glucosado (PDA), cuya preparación se hizo en el laboratorio (ECHANDI, 1971), realizándose 10 repeticiones y analizando de esta manera al menos 100 semillas por muestra. Las placas de Petri se incubaron a temperatura ambiente entre 6 y 10 días, realizándose lecturas periódicas y anotando el número de especies presentes en cada semilla.

Para conocer la presencia del género *Fusarium* se realizaron análisis específicos con todas las muestras, utilizando para ello el medio selectivo para *Fusarium* (KOMADA, 1975) (Fig. 3) y el mismo procedimiento que el indicado con el medio PDA.

#### Identificación de los micetos

La identificación de los distintos hongos se llevó a cabo mediante la lectura de sus

características taxonómicas por medio de la observación directa de las placas y preparaciones al microscopio óptico. La taxonomía se realizó sobre los géneros de mayor importancia cuantitativa presentes en el inventario y, cuando fue necesario, se realizaron mediciones del diámetro de las conidias, la longitud de los esterigmatos y de la longitud y anchura de los conidióforos.

Para la identificación se siguió la obra de BARNETT y HUNTER (1972) y SINOBAS (1990). En el caso de la taxonomía del género *Alternaria*, se siguió la obra de ROTEM (1994) y ELLIS (1971) y, en el caso de *Aspergillus*, los criterios adoptados fueron los de THOM et al. (1945). La identificación de los hongos del género *Fusarium* se hizo de acuerdo a los criterios expresados por MESSIAEN y CASSINI (1968) y NELSON et al. (1983). La taxonomía del género *Penicillium* se realizó en base a la clave propuesta por RAPER y THOM (1949).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron 4400 semillas con medio PDA y K, a partir de las cuales se obtuvieron un total de 15 géneros fúngicos distintos, los resultados de los ensayos muestran como la carga fúngica de las semillas de cardo analizadas se compone casi inalterablemente por hongos comunes en las semillas almacenadas.

Muchos de los géneros detectados están descritos como patógenos en otras especies como en el caso de *Aspergillus* (HARMAN, 1972) o *Alternaria* (MC LEAN, 1947; GAETAN y MADIA, 1998).

Por lo general, las semillas contaminadas no mostraron síntomas visibles en el exterior, solamente con medios de cultivo y condiciones de fotoperiodo, temperatura, y humedad adecuadas se indujo el desarrollo de los micetos presentes en las semillas.

Los cuadros 2, 3 y 4 reflejan el porcentaje de semillas que resultaron infectadas por cada hongo, éstas se calcularon sobre las 100 semillas analizadas por muestra y medio de cultivo (DÍAZ y TELLO, 1994).

Cuadro 2. Hongos aislados a partir de los lotes de semillas de Cardo (*Cynara cardunculus* L.) procedentes de Madrid. Se expresa en porcentaje sobre el total de semillas analizadas en PDA.

Códigos de Muestras	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Drechslera</i>	<i>Nigrospora</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Ulocladium</i>	<i>Trichothecium</i>	Mucoráceos	Sin identificar
M-1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M-2	-	-	-	4	9	-	-	-	-	-	-	-
M-3	-	-	-	4	7	-	-	-	-	-	-	-
M-4	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
M-5	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-
M-6	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
M-7	-	-	2	-	9	-	-	-	-	-	-	-
M-8	33	13	11	-	-	2	-	-	-	-	-	-
M-9	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
M-10	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
M-11	37	40	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-
M-12	40	37	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
M-13	37	30	7	7	-	-	10	-	-	-	-	-
M-14	47	40	-	-	27	-	-	-	-	-	-	-
M-15	20	70	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
M-16	57	13	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
M-17	27	17	7	-	17	-	13	-	-	-	-	-
M-18	63	23	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
M-19	30	50	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-
M-20	47	30	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M-21	50	33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M-22	57	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
M-23	63	17	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
M-24	80	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M-25	53	53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M-26	47	13	-	-	7	-	10	-	-	-	-	-
M-27	68	20	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-
M-28	23	17	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
M-29	25	40	35	25	100	-	-	-	-	-	-	-
M-30	25	5	45	25	-	-	-	-	-	-	-	5
M-31	25	10	5	40	-	-	-	-	-	-	-	5
M-32	50	-	40	60	-	-	-	-	-	20	-	-
M-33	25	30	5	15	-	-	-	-	-	-	-	-
M-34	10	10	95	70	2	-	-	-	-	-	-	-
M-35	-	5	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-
M-36	50	10	15	15	-	-	-	-	-	5	-	-
M-37	10	20	55	20	-	-	-	-	-	-	-	-
M-38	-	65	65	35	100	-	-	-	5	-	-	-
M-39	15	10	30	25	1	-	-	-	-	-	-	-
M-40	30	30	70	15	4	-	-	-	-	-	-	-
M-41	-	65	80	15	100	-	-	-	-	-	-	-
M-42	15	10	5	80	100	-	-	-	-	-	-	-
M-43	25	15	10	45	1	-	-	-	-	-	-	-
M-44	5	50	100	20	100	-	-	-	-	-	-	-

Los géneros de hongos *Bipolaris*, *Acremonium* y *Pleurophragmium* se aislaron a partir de lotes de semillas procedentes de Madrid en porcentajes inferiores al 5% y en una sola muestra en cada caso.



Cuadro 3. Hongos aislados a partir de los lotes de semillas de Cardo (*Cynara cardunculus* L.) procedentes de Badajoz. Se expresa en porcentaje sobre el total de semillas analizadas en PDA.

Códigos de Muestras	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Drechslera</i>	<i>Nigrospora</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Ulocladium</i>	<i>Trichothecium</i>	Mucoráceos	Sin identificar
B-1	35	10	-	18	20	-	-	18	-	-	-	-
B-2	45	3	-	-	18	-	-	15	-	-	-	-
B-3	30	5	5	10	5	-	-	5	-	-	-	-
B-4	55	8	3	8	10	-	-	5	-	-	-	-
B-5	58	5	8	20	23	-	-	3	-	-	3	-
B-6	58	8	-	13	8	-	-	10	-	-	-	-
B-7	80	65	-	-	-	-	40	-	5	-	-	-
B-8	60	65	15	-	-	-	-	-	-	-	30	-
B-9	55	50	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-10	90	45	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Cuadro 4. Microbiota fusárica aislada a partir de semillas de Cardo (*Cynara cardunculus* L.). Se agrupan las muestras según el porcentaje de especies fúngicas aisladas sobre el total de semillas analizadas en medio selectivo para *Fusarium* (K)

Procedencia de la muestra	Total muestras analizadas	<i>Fusarium moniliforme</i>					<i>Fusarium solani</i>		
		%	1-25%	26-50%	51-75%	76-100%	0%	1-5%	6-25%
Madrid	44	16	12	5	8	3	43	1	-
Badajoz	10	1	6	1	1	1	-	-	2

Entre los hongos aislados a partir de los lotes de semillas cosechados con anterioridad al año 1997 (M-1 a M-10) se observó una alta presencia del género *Rhizopus* que, invadiendo rápidamente las cajas de Petri de los ensayos, impide el desarrollo e incluso la identificación de ningún otro género en las muestras M-4, M-6, M-9 y M-10.

En las 6 muestras no invadidas completamente por *Rhizopus*, cabe destacar el 33% de semillas que albergaban *Alternaria* en la muestra M-8, y 2% en la muestra M-1 y M-3, en el resto de las muestras no se detectó este hongo.

El género *Cladosporium*, sólo aparece en la muestra M-8 en un 13% de semillas afectadas, el género *Penicillium*, también considerado como típico hongo de semillas, sólo

se aísla en las muestras M-2 y M-3 en porcentajes del 4%, al igual que *Aspergillus*, género que sólo se detectó en las muestras M-7 y M-8.

En cuanto a las semillas cosechadas en 1997 procedentes de Madrid (M-11 a M-28) y Badajoz (B-1 a B-6) el recuento realizado mostró altos porcentajes de semillas con *Alternaria* en todas las muestras de Madrid y Badajoz, llegando al 80% en la muestra M-24. Los conidios de *Alternaria* presentes en las cubiertas de las semillas sanas podrían germinar, como se ha descrito para las semillas de soja (VAUGHAN, 1988), penetrando hasta el embrión a través del endospermo, y ocasionando serios daños en plántulas, como marchitamiento, e incluso haciendo que las semillas pierdan su viabilidad. También se

ha de tener en cuenta que algunas especies de *Alternaria* patógenas para la parte aérea de la planta lo pueden ser, también, para las semillas. Las esporas pueden ser transportadas en la cubierta de las mismas, aunque el hecho de que en los ensayos aparezcan altas contaminaciones del hongo, en realidad no tiene por que significar una infección efectiva del mismo.

El género *Cladosporium* aparece en todas las muestras excepto en la M-22, las muestras de Badajoz cosechadas ese mismo año tienen porcentajes más bajos de presencia de *Cladosporium* que las de Madrid, seguramente debido a la rápida colonización que, por parte de *Rhizopus*, se produjo en esta muestra, no permitiendo el desarrollo de colonias de otros hongos. Este intenso ataque de *Rhizopus* afecta al 56% de los lotes de semillas de Madrid y al 100% de los lotes de semillas de Badajoz cosechadas en 1997.

Al contrario de lo que era de esperar, en semillas del año 1997, la presencia de hongos de almacén como *Aspergillus* y *Penicillium* tiene lugar en bajos porcentajes, lo que no permitiría pensar que dichos géneros pueden multiplicarse en las semillas con el transcurso del almacenaje, y que su presencia tiene más relación con el año de cosecha.

Hay que destacar la presencia del género *Nigrospora* en 5 muestras de Madrid, aunque los porcentajes de infección son bajos, aparecen en demasiadas muestras para pensar que se trata de una infección puntual, abriendo interesantes interrogantes. Este hongo es, según ELLIS (1971) cosmopolita y puede aislarse tanto del suelo como del aire. Puede encontrarse en plantas ocasionando enfermedades (*N. Oryzae*) o en restos vegetales, incluso en alimentos. En las muestras de Badajoz de ese mismo año no se detectó el género *Nigrospora* en ninguna de ellas.

La aparición, aunque en menor medida, de otros géneros como *Phialopora* en las seis muestras de Badajoz del año 1997, unido al hecho de que en los lotes de semillas procedentes de Badajoz del año 1998 no se haya identificado este género en ninguna de las muestras analizadas nos permiten pensar que

se trata de un hongo cuya aparición ha sido eventual y está dentro de lo posible. ELLIS (1971) recoge que se aísla del aire, suelo, agua, madera y pulpa de madera. Algunos de sus miembros son patógenos de plantas como el clavel o las raíces de los cereales.

En los hongos aislados a partir de los lotes de semillas cosechados en 1998 de Madrid (M-29 a M-44) y Badajoz (B-7 a B-10) aparece un aumento con relación a 1997 en el porcentaje de semillas afectadas por los hongos denominados de almacén, como *Penicillium* y *Aspergillus*, mientras que *Alternaria* y *Cladosporium* mantienen su frecuencia.

El género *Alternaria* aparece de manera constante en la mayoría de las muestras. Hemos de tener en cuenta que la infección por este patógeno de las semillas, tiene lugar por vía indirecta, es decir que comienza en la flor y se traslada a las diferentes partes del ovario y de los tejidos del óvulo. No es un proceso estrictamente sistémico, pero algunos hongos, como la *Alternaria*, pueden ver aumentada su capacidad para colonizar gracias al polen, que les provee de los nutrientes necesarios para una rápida germinación y crecimiento de las conidias (CHANNON, 1970).

Las semillas de Madrid tienen mayor infección de *Aspergillus* que las de Badajoz, en las muestras M-34 y M-44 se detectan en el 95 y 100% de las semillas respectivamente. La elevada presencia de los géneros como *Aspergillus* y *Alternaria* hace temer por una potencial producción de toxinas muy elevada, que aumenten el efecto nocivo que los hongos puedan tener sobre la viabilidad de las semillas.

La producción de toxinas y su efecto en las plantas y en la germinación de las semillas ha sido citado anteriormente por algunos investigadores en géneros como *Alternaria* (TIETJEN *et al.*, 1982; ROTEM, 1994) o *Aspergillus* (HARMAN, 1972; HAGLER *et al.*, 1987).

La presencia del género *Rhizopus* fue generalizada y particularmente importante en las muestras M-29, M-38, M-41, M-42 y M-44, donde el hongo se detectó en el 100% de las muestras analizadas.

El género *Nigrospora* solo aparece en la muestra B-7 de todos los lotes estudiados, lo

que respalda la creencia de que su presencia es debida a causas externas al propio cultivo del cardo. Las bacterias siguen teniendo una importancia relativa. La aparición de otros géneros de hongos como *Bipolaris*, *Acremonium* y *Pleurophragmium* en porcentajes inferiores al 5% en una sola muestra de Madrid, *Trichothecium* en dos muestras o *Ulocladium*, en muestras de las dos localidades, se deben a contaminaciones puntuales, no teniendo especial relevancia para la evaluación de la sanidad final de las semillas.

Los ensayos para la determinación de la microbiota fusárica a partir de los lotes de semillas cosechadas en años anteriores a 1997, sobre medio selectivo K reflejados en el Cuadro 4, muestran altos porcentajes de semillas afectadas por *F. moniliforme* (sensu NELSON *et al.*, 1983), en las muestras M-6 y M-9. El 70% de las muestras se ven afectadas por *F. moniliforme*, aunque el 50% en porcentajes bajos. Las variaciones de una muestra a otra se deben a los diferentes años de procedencia de las mismas y puede estar muy influenciado por el lugar de cultivo y por cultivos próximos a la parcela de obtención de semillas de cardo.

En cuanto a los lotes de semillas de 1997 (M-11 a M-28), el recuento realizado muestra porcentajes de semillas afectadas que llegan al 100% en las muestras M-23, M-26 y M-28, y que afectan a todas las muestras de Badajoz (B-1 a B-6).

En la microbiota fusárica aislada a partir de los lotes de semillas de 1998, destaca también *F. moniliforme*, que aparece con mayor frecuencia en las semillas de Badajoz (B-7 a B-10) que en las de Madrid (M-29 a M-44), aunque en densidades menores a las de 1997. En las muestras de Madrid, solamente se identifica en el 31% de las muestras, mientras que en las de Badajoz aparece en tres de los cuatro lotes analizados.

Es importante señalar los porcentajes superiores de *F. moniliforme* que presentan las muestras de Badajoz frente a las de Madrid, influenciadas posiblemente por las técnicas culturales utilizadas en cada zona y el frecuente cultivo de maíz en la vega del Guadiana, así como a tratarse de un hongo difundido por el viento en campo, muy influenciado por cultivos cerealistas próximos a las parcelas de cultivo del cardo, que infecta los frutos en desarrollo gracias al vínculo vascular que presenta con la planta madre, como evidencian RUDOLPH y HARRISON, (1945). Otros autores han estudiado la importancia cada vez mayor de las toxinas (fumonisinas A y B; zearalenona) producidas por el género *Fusarium* y sus efectos en diferentes cultivos (COLE *et al.*, 1973; MUTHOMI *et al.*, 2002). La aparición de éste género junto a otros hongos de almacén, puede también explicarse por el hecho de que la especie aislada es *F. moniliforme*, que tiene la particularidad de poder crecer en atmósferas



Figura 4. Conidióforo simple de *Penicillium biverticillata* Symmetrica.

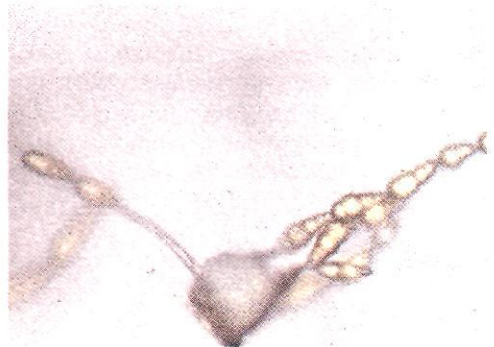


Figura 5. Conidias muriformes y en cadena de *Alternaria alternata*.

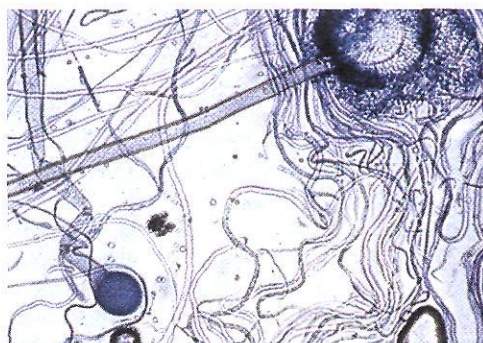


Figura 6. Esterigmatos y conidióforo de *Aspergillus niger*.

con bajos porcentajes de humedad y ocasionar fallos de nascencia en maíz.

En lo concerniente a la identificación de géneros y especies, se realizó más detenidamente sobre aquellos cuyo número de colonias era evidentemente superior al resto, se seleccionaron para ello varios aislados de cada hongo a partir de las siguientes muestras:

- 2 aislados de *Cladosporium* pertenecientes a las muestras de semillas B-10 y M-38.
- 1 aislado de *Rhizopus* perteneciente a la muestra M-39.
- 2 aislados de *Penicillium* pertenecientes a las muestras de semillas B-2 y M-30.
- 2 aislados de *Aspergillus* pertenecientes a las muestras de semillas M-30 y M-1.
- 2 aislados de *Alternaria* pertenecientes a las muestras de semillas M-14 y B-6.
- 2 aislados de *Fusarium* pertenecientes a las muestras de semillas M-29 y B-6.

Los aislados de *Penicillium* fueron identificados ambos como *Penicillium biverticillata* Simétrica (Fig. 4), pertenecientes a la serie *Penicillium rugulosum*. Las conidias se presentaban en cadenas de conidias lisas y unidas entre sí, con un diámetro de 4,3  $\mu\text{m}$ , un diámetro transversal de la vesícula de 25

$\mu\text{m}$ , una longitud del conidióforo de 302,  $\mu\text{m}$  y una anchura del conidióforo de 8,1  $\mu\text{m}$ .

Los dos aislados de *Alternaria* fueron identificados como *A. alternata* (Fig. 5). Los aislados del género *Cladosporium* fueron identificados como *C. herbarum*. Los aislados de *Fusarium* procedentes de muestras de Madrid y Badajoz, resultaron también ser aislados de la misma especie, identificándose como *F. moniliforme*.

En cuanto a los aislados de *Aspergillus* su determinación se realizó por separado, pues presentaban diferencias significativas entre ambos. El aislado procedente de la muestra M-30 mostraba colonias de color marrón amarillento, con conidias en cadenas largas (>20 unidades). El diámetro de las conidias fue de 4,4  $\mu\text{m}$ , con pared no uniforme, la longitud del esterigmatos fue de 19,375  $\mu\text{m}$ , y la del conidióforo 425  $\mu\text{m}$  con una anchura de 9,8  $\mu\text{m}$ . Todos estos datos permitieron identificar la especie como *A. flavus*.

El segundo aislado de *Aspergillus*, procedente de la muestra de semillas M-8 presentaba sus colonias de color negro. El diámetro de las conidias fue de 3,950  $\mu\text{m}$  y la longitud y anchura del conidióforo de 480 y 9,375  $\mu\text{m}$  respectivamente. Características que se corresponden con la especie de *Aspergillus* de más frecuente aparición en silos de almacenamiento; *A. niger* (Fig. 6).

Del género *Rhizopus* sólo se purificó un aislado a partir de la muestra M-39, siendo identificado como *R. stolonifer*.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado a través del proyecto SC98-007-CB-2 del I.N.I.A., denominado "El cardo (*Cynara cardunculus* L.) como cultivo alternativo para la producción de biomasa en tierras de secano", cuyo director es el Dr. Fernández González.



# ABSTRACT

PALMERO D., C. IGLESIAS, J. SINOBAS †. 2005. Analysis of the fungal microbiota associated with thistle seeds cultivars (*Cynara cardunculus* L.). *Bol. San. Veg. Plagas*, 31: 277-285.

Fungal population in a total of 54 samples of thistle seeds harvested between 1992-93 and 1997-98 seasons were examined, 10 samples belonged to the Servicio de Investigación Agraria (Badajoz), and 44 samples of the Department of Botany of the Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (Madrid). The presence of the different species varied based on the localities and the years of harvest. Among the fungal genus isolated we can find a great amount of common saprophytes as: *Penicillium*, *Alternaria*, *Rhizopus* and *Cladosporium*, according to their potential pathogenicity we have to emphasize species of the genus *Fusarium* or *Aspergillus*.

**Key words:** Seeds, thistle, *Cynara cardunculus*, fungal microbiota.

# REFERENCIAS

- BARNETT, H. L. and HUNTER, B. B., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess publishing company. Minneapolis, Minnesota: 241 pp.
- CHANNON, A. G., 1970. Test of fungicides against *Alternaria brassicicola* and studies on some factors enhancing attack by the fungus. *Ann. Of Apl. Biol.*, 65: 481-487.
- COLE, R. J.; KIRKSEY, W. J.; CUTLER, H.G.; DOUPNIK, B. L. and PECKHAM, J.C., 1973. Toxin from *Fusarium moniliforme*: Effects on plants and animals. *Science*, 179: 1324-1326.
- DÍAZ, D. y TELLO, J. C., 1994. Un inventario fúngico de las semillas de lenteja (*Lens culinaris* Medik.) recolectadas en Castilla La Mancha. *Bol. San. Veg. Plagas*, 20: 857-870.
- ECHANDI, E., 1971: Manual de laboratorio para fitopatología general. Herrero Hnos., sucesores S.A., México: 58 pp.
- ELLIS, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Ed: C.A.B. Kew, Surrey, England. 608 pp.
- FERNÁNDEZ, J., 1994. Los cultivos energéticos para la Península Ibérica. En "Los cultivos no alimentarios como alternativa al abandono de tierras". Ed. Agrícola Española S.A. 127 pp.
- GAETAN, S. y MADIA, M. S., 1998. La mancha negra de la hoja (*Alternaria brassicicola* (Schw.) wiltsh.) en cultivos de colza cáñola en Buenos Aires y Santa Fé, Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas*, 24: 573-580.
- GROGAN, R. G.; KIMBLE, K. A. and MISAGHI, I., 1975. A stem canker disease of tomato caused by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 65: 880-886.
- HAGLER, W. M.; BOWMAN, D. T.; BABADOOST, M.; HANEY, C. A. and SWANSON, S.P., 1987. Aflatoxin, zearalenone and deoxynivalenol in North Carolina grain sorghum. *Crop Science*, 27: 1273-1278.
- HARMAN, G. E., 1972. Deterioration of stored seeds by *Aspergillus ruber*, extraction and properties of a toxin. *Phytopathology*, 62: 206-208.
- HERNÁNDEZ, C., 1996. Manuales de energías renovables. Energía de la biomasa. Ediciones IDAE.
- KOMADA, H., 1975. Development of selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Review of Plant Protection Research, 8: 114-125.
- MC LEAN, D. M., 1947. *Alternaria* blight and seed infection, in certain radish seed crop. *Jour. of Agr. Res.*, 75: 71-79.
- MESSIAEN, C. M. y CASSINI, R., 1968. Recherches sur les fusarioses iv. La systematique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*, 19: 387-454.
- MUTHOMI, J. W.; OERKE, E. C.; DEHNE, H. W. and MUTITU, E. W., 2002. Susceptibility of Kenyan Wheat Varieties to Head Blight, Fungal Invasion and Deoxynivalenol Accumulation Inoculated with *Fusarium graminearum*. *J. Phytopathology* 150: 30-36.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A. and MARASAS, W. F. O., 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. 193 pp.
- RAPER, K.B., and THOM C. 1949. A manual of the Penicillia. Williams & Wilkins, Baltimore.
- ROTEM, J., 1994. The genus *Alternaria*: biology, epidemiology and pathogenicity. APS Press. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- RUDOLPH, B. A. and HARRISON, G. J., 1945. The invasion of the internal structure of cotton seed by certain fusaria. *Phytopathology*, 35: 542-548.
- SINOBAS, J., 1990. Guía para la identificación de hongos fitopatógenos. Monografía N°14. Ed: E.U.I.T.A. Madrid.
- THOM, C. and RAPER, KB. 1945. A manual of the Aspergilli. Balliere, Tindall & Cox, London.
- TIETJEN, K. G.; SCHALLER, E. and MATERN, U., 1983. Phytotoxins from *Alternaria carthami* chowdhury: Structural identification and physiological significance. *Physiol. Plant Pathol.*, 23: 387-400.
- VAUGHAN, D. A.; KUNWAR, I. K.; SINCLAIR, J. B. and BERNARD, R. L., 1988. Routes of entry of *Alternaria* sp. into soy bean seed coats. *Seed Science and Technology*, 16: 725-731.

(Recepción: 20 septiembre 2004)  
(Aceptación: 1 abril 2005)